PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE

INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) (51) Internationale Patentklassifikation 7: (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/37156 B01D 15/02 A1 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 29. Juni 2000 (29.06.00) PCT/EP99/09495 (21) Internationales Aktenzeichen: (81) Bestimmungsstaaten: CZ, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, (22) Internationales Anmeldedatum: 4. Dezember 1999 (04.12.99) MC, NL, PT, SE). (30) Prioritätsdaten: Veröffentlicht 198 58 892.5 DE Mit internationalem Recherchenbericht. 19. Dezember 1998 (19.12.98) Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MERCK PATENT GMBH [DE/DE]; Postfach, D-64271 Darmstadt (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): BRITSCH, Lothar [DE/DE]; Möslestrasse 20, D-79276 Reute (DE). SCHULTE, Michael [DE/DE]; Im grossen Ramsee 20, D-65428 Rüsselsheim (DE). STRUBE, Jochen [DE/DE]; Letterhausstrasse 22, D-58099 Hagen (DE). (54) Title: CONTINUOUS METHOD FOR SEPARATING SUBSTANCES ACCORDING TO MOLECULAR SIZE (54) Bezeichnung: KONTINUIERLICHES VERFAHREN ZUR TRENNUNG VON STOFFEN NACH MOLEKÜLGRÖSSE (57) Abstract The invention relates to continuous methods of separation, notably using simulated moving bed techniques, according to which the analytes are separated by size exclusion chromatography. (57) Zusammenfassung Kontinuierliche Trennverfahren, insbesondere unter Verwendung von SMB-Verfahren, werden offenbart, wobei die Analyte durch Size Exclusion Chromatographie (Gelpermeationschromatographie) getrennt werden.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	po					
AM	Armenien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AT	Österreich	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakci
AU	Australien	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AZ	Aserbaidschan	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
BA		GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BB	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BE	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	Ľľ	Tadschikistan
	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische	TM	
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Turkmenistan
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali		Turkei
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BR	Brazilien	IL.	Israel	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	UG	Uganda
CA	Kanada	IT	Ralien	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger		Amerika
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	UZ	Usbekistan
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO		VN.	Vietnam
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Norwegen	YU	Jugoslawien
CM	Kamerun		Korea		Neusceland	ZW	Zimbabwe
CN	China	KR	Republik Korea	PL	Polen		
CU	Kuba	KZ.	Kasachstan	PT	Portugal		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RO	Rumänien		
DE	Deutschland	L	Liechtenstein	RU	Russische Föderation		
DK	Dänemark	LK		SD	Sudan		
EE	Estland	LR	Sri Lanka	SE	Schweden .		
		LK	Liberia	SG	Singapur .		

Kontinuierliches Verfahren zur Trennung von Stoffen nach Molekülgröße

Die Erfindung betrifft die Übertragung von chromatographischen Trennverfahren nach dem Size Exclusion Prinzip (Size Exclusion Chromatography; SEC) auf kontinuierliche Chromatographieverfahren, insbesondere auf die simulierte Gegenstrom-Chromatographie (Simulated Moving Bed (SMB) Chromatographie).

10 Die Trennung von Stoffen, insbesondere Makromolekülen, nach Molekülgröße ist ein verbreitetes chromatographisches Trennprinzip. Besonders in der Aufreinigung von Peptiden und Proteinen werden Verfahren wie die Size Exclusion Chromatographie (SEC), häufig auch Gelpermeationschromatographie genannt, im großem Umfang eingesetzt. So werden 15 beispielsweise in dem Übersichtsartikel von G. Subramanian, Process scale liquid chromatography (VCH Weinheim 1995) präparative Anwendungen dieser Trennmethode dargestellt. Alle diese Anwendungen beruhen jedoch auf batch-Verfahren, die sich durch eine schlechte Raum-Zeit-Ausbeute auszeichnen. Die Ursache liegt zum einen in den langen 20 Retentionszeiten der Komponenten, die eine große Zykluszeit (Zeit zwischen zwei Injektionen) bedingen. Da die meisten in der SEC eingesetzten Materialien nur eine geringe Druckstabilität aufweisen. können die Flußraten nicht erhöht werden, um eine schnellere Trennung zu erzielen. Zudem weisen die meisten Trägermaterialien eine schlechte 25 Beladbarkeit auf (< 5% des Gelvolumens). Manche dieser Probleme ließen sich durch die Anwendung kontinuierlicher Verfahren verbessern. Es ist bisher jedoch nicht möglich, diese SEC-Trennverfahren auf kontinuierliche Verfahrensweisen anzuwenden; die Parameter für ein derartiges kontinuierliches Trennverfahren müßten durch geeignete Modellrechnun-30 gen bestimmt werden. Außerdem müssen die erhaltenen Prozeßparameter einen stabilen kontinuierlichen Betrieb erlauben.

Kontinuierliche chromatographische Verfahren, wie z.B. die Simulated Moving Bed (SMB)- Chromatographie werden traditionell im großen Maßstab in der petrochemischen und der Zuckerindustrie eingesetzt. Mittlerweile finden diese Verfahren jedoch auch in der feinchemischen und pharmazeutischen Industrie Anwendung, hauptsächlich zur Trennung von Isomeren und Enantiomeren, d.h. bei Trennproblemen von klassischen Zweistoffgemischen. Erste Versuche zur Isolierung von Komponenten aus Mehrstoffgemischen wurden ebenfalls beschrieben.

10

15

20

25

5

Um geeignete Prozeßparameter für die SMB-Chromatographie zu gewinnen, wurden mehrere Simulationsmodelle entwickelt, von denen das rigorose SMB-Prozeßmodell den weitreichensten Ansatz aufweist. Simulationsansätze sind beispielsweise von Nicoud et al. (Nancy, 1993) und in WO 97/34 918 offenbart. Gemeinsam ist diesen Verfahren, daß für die Analyte Adsorptionsisotherme ermittelt werden; diese Meßergebnisse sind dann die Grundlage der Modellrechnungen. Bei Weiterentwicklungen aus jüngerer Zeit wurden auf der Grundlage des True Counter Current Modells Trennungen von binären Mischungen im Modell dargestellt: G. Storti et al. (1993) AIChE Journal 39, Seiten 471 - 472 und von E. Francotte et al. (1998) J. Chromatogr. A 796, Seiten 239 - 248. Bei einer weiteren Entwicklung werden ausgehend von einem ersten Parametersatz unter Anwendung von detaillierter Prozeßsimulation die Parameter optimiert: J. Strube, U. Altenhöner, M. Meurer und H. Schmidt-Traub (1997) Chem.-Ing. Tech. 69, Seiten 328 - 331, sowie Dissertation J. Strube (Universität Dortmund, 1996). Alle diese Modelle beruhen jedoch auf der Bestimmung von Adsorptionsisothermen.

Während bisher für SMB-Verfahren angewandte chromatographische
Trennverfahren, beispielsweise die Enantiomerentrennung oder die Ionenaustauschchromatographie, auf adsorptiven Vorgängen beruht,

10

15

20

25

30

beruht die SEC auf einem gänzlich anderen Prinzip: Für Analyte unterschiedlicher Molekülgröße stehen wegen der Porengrößenverteilung im Sorbens unterschiedliche Volumina zur Verteilung offen: somit elujeren größere Moleküle früher als kleinere. Die SEC beruht also auf einem diffusiven Mechanismus unter Einschluß eines Größenausschlußmechanismus, eine Adsorption der Analyte an das Sorbens findet nicht statt. Phasengleichgewichte wie bei der Adsorptionschromatographie liegen folglich nicht vor. Somit sind die bisher bekannten Modellierungsverfahren, die die Parameter für die SMB-Chromatographie liefern, für die SEC nicht anwendbar. Insbesondere tritt das Problem auf, die Raffinatfront der am kürzesten retinierten Komponente im Bereich der Sektion IV, d.h. zwischen Raffinat- und Eluentenleitung, zu stabilisieren. Dieses Problem wird weiter verstärkt, da bei vielen SEC Trennverfahren ein Teil der Analyte im Ausschlußvolumen (void volume) eluiert. Solche Komponenten werden durch die Zone IV transportiert und verunreinigen die Extraktkomponente. Es ist bisher unmöglich, für SEC-Trennverfahren die Prozeßparameter von batch-Rechnermodellen auf kontinuierliche Trennverfahren (z.B. SMB-Trennverfahren) zu übertragen, und somit gezielt Trennparameter für kontinuierliche Trennverfahren zu gewinnen, die einen stabilen Betrieb erlauben.

Aufgabe der Erfindung ist es also, Modelle und Verfahren zu entwickeln, die es erlauben, für SEC-Trennverfahren gezielt Trennparameter für kontinuierliche Trennverfahren zu gewinnen, die einen stabilen Betrieb erlauben.

Gegenstand der Erfindung sind kontinuierliche Trennverfahren, insbesondere unter Verwendung von SMB-Verfahren, bei denen die Analyte durch Size Exclusion Chromatographie (Gelpermeationschromatographie) getrennt werden.

Abbildung 1 zeigt die SEC-Trennung von Magermilchpulver auf einer Superformance® Säule 600 * 16 mm, gefüllt mit Fractogel® EMD BioSEC (S), die Abbildungen 2 – 4 zeigen die Chromatogramme der Einzelkomponenten:

5

15

20

Abbildung 2

Casein-Fraktion

RT 39,5; 53,92 min

Abbildung 3

B-lactoglobulin A

RT 63.52 min

Abbildung 4

alpha-Lactalbumin

RT 71,60 min

Abbildung 5 stellt ein Elutionschromatogramm der Einzelkomponenten dar, das als Ergebnis der erfindungsgemäßen rigorose Modellierung der Einzelsubstanzen ermittelt wurde.

Abbildung 6 zeigt das interne axiale Konzentrations-Profil einer SEC-SMB Anlage mit den Konzentrationen der Einzelkomponenten in den einzelnen Zonen zum Ende einer Taktzeit.

Eine theoretische Modellrechnung für einfache Stoffsysteme für SEC-Trennungen im batch-Verfahren wurde von Tien Gu beschrieben (Mathematic Modelling of Liquid Chromatography; Springer Verlag, 1995).

Es wurde gefunden, daß stabile Prozeßparameter für die Anwendung von SEC Trennungen in SMB-Verfahren erhalten werden können, wenn man erfindungsgemäß folgendermaßen vorgeht:

- 25 a) Die Verweilzeiten der zu trennenden Substanzen in der Trennsäule und die Bandenverbreiterung der Substanzpeaks werden berechnet. Für die Berechnung der Verweilzeiten dient beispielsweise das bereits genannte von Tien Gu (1995) angegebene Verfahren.
- b) Aus den Daten, die mittels (analytischer) batch-Chromatogramme erhalten werden, werden die effektiven Porositäten für jede Komponente und die Verweilzeiten berechnet.

- c) Die Bandenverbreiterung kann beispielsweise aus den effektiven molekularen Diffusionskoeffizienten berechnet werden. Die effektiven molekularen Diffusionskoeffizienten k\u00f6nnen auf der Grundlage der Stokes-Einstein-Relation und den Molekulargewichten der Komponenten abgesch\u00e4tzt werden.
- d) Die Übereinstimmung der berechneten Daten (Schritte b) und c)) mit dem beobachteten Elutionsprofil wird überprüft und gegebenenfalls die berechneten Daten in weiteren Iterationsschritten besser an die experimentellen Daten angepaßt.
- e) Aus den Parametern der angepaßten Modellrechnung werden, nach prinzipiell bekannten Verfahren, wie sie beispielsweise in den bereits genannten Publikationen G. Storti et al. (1993) oder Dissertation Strube (1996) angegeben sind, die notwendigen Nettoflußratenverhältnisse des SMB-Prozesse berechnet.

20

5

Durch die oben angegebene Vorgehensweise zur Berechnung von Verweilzeit und Bandenverbreiterung und den daraus resultierenden Parametern, können die vorbekannten Modelle (G. Storti et al. (1993) oder Dissertation Strube (1996)) auch ohne Ermittlung von Adsorptionsisothermen angewandt werden.

Das vorgeschlagene Modell erwies sich als hinreichend genau als es für verschiedene Konzentrationen und lineare Geschwindigkeiten an einer Einzelsäule überprüft wurde. Dabei wird die Verteilung der Verweilzeiten durch die Diffusionsparameter bestimmt, wie sie für die Innenvolumina der Sorbenspartikel gelten. Aus den Molekulargewichten der Komponenten werden nach der Stokes-Einstein Relation die effektiven molekularen Diffusionskoeffizienten abgeschätzt und in dem Modell als Stofftransportkoeffizienten berücksichtigt.

30

25

Erfindungsgemäß können allgemein bekannte SEC-Träger verwendet werden; bevorzugt sind druckstabile SEC-Träger, die ebenfalls kommerziell

angeboten werden, beispielsweise Fraktogel® EMD BioSEC, wie es in DE 43 16 136 offenbart ist.

Erfindungsgemäß werden SMB-Anlagen verwendet, wie sie ebenfalls kommerziell erhältlich sind. Dies sind beispielsweise Anlagen, welche durch Verschaltung von Zweiwegeventilen aufgebaut sind, oder Anlagen mit einem Multiportventil. Die Trennung wird unter isokratischen Bedingungen durchgeführt und kann somit in einem Simulated Moving Bed-System automatisiert werden.

10

15

20

5

Bei der Isolierung von Komponenten aus Mehrstoffgemischen können Komponenten, die als erste oder letzte eluieren direkt in reiner Form abgezogen werden. Zur Isolierung von Substanzen, die von beiden Seiten durch Verunreinigungen flankiert werden, kann durch Kombination mehrerer SMB-Reinigungsschritte, wie z.B. in WO 97/34 918 offenbart, eine Aufreinigung erzielt werden.

Um den speziellen Anforderungen von biotechnologischen Aufgabenstellungen an den Prozeß zur Mehrkomponententrennung gerecht zu werden, ist die sogenannte offene Betriebsweise mit 3-Zonen ohne Schließen des Kreislaufstroms besonders gut geeignet, um großmolekulare Verunreinigungen oder Anreicherungen aus dem Prozeß auszuschleusen, wenn die niedermolekulare Fraktion gewonnen werden soll, und auch um großmolekulare Produkte direkt abzuziehen.

25

30

Um CIP (Cleaning in Place) Anforderungen nachzukommen, ist die Betriebsweise mit Ausschleusen von Säulen in der Zone 1 oder 4 (mit den Funktionen Adsorbensregeneration und Desorbensreinigung) und Spülen sowie Regeneration und Reinigung des Adsorbens und abschnittsweise auch der Rohrleitungsteile und Bauelemente mit z.B. NaOH entscheidend zur Funktionsfähigkeit und um Anreicherungen zu vermeiden.

Das erfindungsgemäße Trennverfahren erlaubt eine verbesserte
Auftrennung von Proteinen nach Molekülgröße, da es sich in großen
Anlagen kontinuierlich und vollautomatisch durchführen läßt; diese
Trennverfahren sind insbesondere auf folgenden Anwendungsgebieten
anwendbar:

- Aufreinigung von Proteinen aus Milch transgener Tiere;
- Aufreinigung von Proteinen, beispielsweise der Faktoren VIII, vW oder IX, aus Blutplasma;
- Aufreinigung von Plasmiden;
 - ein weiteres großvolumiges Verfahren stellt die Entsalzung von Feedgemischen dar, dessen Ökonomie durch ein kontinuierliches SEC-Verfahren verbessert wird.
- Im sogenannten Drug Targeting wird angestrebt, Arzneistoffe gezielt an den Ort der Wirkung zu befördern. Hierzu werden u.A. mit Arzneistoff beladene Liposomen eingesetzt. In der Herstellung dieser Liposomen besteht ein Problem in der Abtrennung nicht-eingeschlossenen Arzneistoffs von den beladenen Liposomen. Dies kann durch ein kontinuierliches SEC-Verfahren im großen Maßstab geleistet werden.
- Neben der Fraktionierung natürlicher Makromoleküle kann das Verfahren natürlich auch auf synthetische Polymere, z.B. Polyethylenoxide, Silicone etc., angewendet werden.
 - In der Kombination mit einem Reaktivträger, wie sie in der Reaktiv-SMB eingesetzt werden, können Reaktion und Trennung in einem Schritt durchgeführt werden. Ein denkbarer Einsatzzweck ist die Abspaltung der TAG-Einheiten rekombinanter Proteine durch eine Protease und die gleichzeitige Abtrennung der TAG-Einheiten von den Zielproteinen durch SEC-SMB.
- Weiterhin sind erfindungsgemäße Verfahren geeignet, Viren aus biologischen Produkten abzureichern, Endotoxine, besonders in aggregierter Form, zu entfernen oder auch Viren aufzureinigen.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten ergeben sich aus der Variation der Porengrößenverteilung der verwendeten Träger. Beispielsweise können Systeme mit kleinporigen Gelen zur Aufreinigung von Peptiden, wie beispielsweise Insulin, eingesetzt werden.

Auch ohne weitere Ausführungen wird davon ausgegangen, daß ein Fachmann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen und Beispiele sind deswegen lediglich als beschreibende, keineswegs als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten

Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen sind durch Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

20

5

10

Anwendungsbeispiel

Die Abtrennung der Casein-Fraktion aus Magermilchpulver wird beschrieben: Für die Ermittlung der Prozeßparameter wird die Probe, sowie die wesentlichen Einzelkomponenten im batch chromatographiert:

Abbildung 1 zeigt die SEC-Trennung von Magermilchpulver auf einer Superformance[®] Säule 600 * 16 mm, gefüllt mit Fractogel[®] EMD BioSEC (S), die Abbildungen 2 – 4 zeigen die Chromatogramme der Einzelkomponenten:

10

5

Abbildung 2	Casein-Fraktion	RT 39,5; 53,92 min
Abbildung 3	ß-lactoglobulin A	RT 63.52 min
Abbildung 4	alpha-Lactalbumin	RT 71,60 min

Abbildung 5 stellt ein Elutionschromatogramm der Einzelkomponenten dar, das als Ergebnis der Iterationen bei der erfindungsgemäß vorgesehenen rigorosen Modellierung der Einzelsubstanzen ermittelt wurde.

Abbildung 6 zeigt das interne axiale Konzentrations-Profil einer SEC-Trennung in einer SMB Anlage mit den Konzentrationen der Einzelkomponenten in den einzelnen Zonen zum Ende einer Taktzeit. Die Prozeßparameter wurden nach dem erfindungsgemäßen Verfahren bestimmt.

Zuordnung der Komponenten:

25

Komponente	Retentionszeit	
A	106,86	
В	98,64	
С	71,39	α-Lactalbumin
D	64,16	ß-Lactoglobulin
E	50,00	Casein
F	43,26	Casein

Eine SMB-Anlage mit folgenden Parametern ist in der Lage die Komponenten E und F (Casein) und A-D in Reinheiten > 99% zu produzieren:

5 Prozeßparameter

Säulendurchmesser 26 mm Säulenlänge 150 mm Säulenanzahl 8 Segmentierung 2:2:2:2 Flußraten: interne Geschw. Zone I 2.7 ml/min Eluent 1.506 ml/min **Extract** 1.578 ml/min Feed 0.84 ml/min Feedkonzentration 100 mg/ml Taktzeit 21 min

15

10

<u>Vergleich Batch-Verfahren gegenüber erfindungsgemäßem SMB-Verfahren:</u>

	Parameter	Batch	SMB
	Säulendurchmesser	26 mm	26 mm
	Säulenlänge	600 mm	150 mm
20	Säulenanzahl	1	8
	Gesamtes Säulenvolumen	319 cm ³	637 cm ³
	Feedkonzentration	100 mg/ml	100 mg/ml
	Feedflußrate		0.84 ml/min
	Injektionsvolumen	200 μΙ	-
	Zykluszeit	120 min	-
	Feeddurchsatz/Tag	0.636 g/d	120.96 g/d
25	Produktivität (g Feeddurchsatz/d* L Säulenvolumen)	1.99 g/d*L	189.9 g/d*L
	Eluentverbrauch (ml/g Feed)	723.6 ml/g	17.78 ml/g

Leistungsvergleich Produktivität	1	95.43
Leistungsvergleich	40.00	
Eluentverbrauch	40.69	7

Ein Vergleich der Produktivitäten von Batch- und SMB-Verfahren zeigt den großen Vorteil des kontinuierlichen Gegenstromverfahrens aufgrund der wesentlich ökonomischeren Ausnutzung der stationären Phase:

10

Erfindungsgemäß werden im Gegensatz zu adsorptiven Trennmechanismen keine Phasengleichgewichtsisothermen beschrieben, sondern erstmals für kontinuierliche Verfahren die für die Stofftrennung nach dem SEC-Verfahren charakteristischen unterschiedlichen Diffusionsgeschwindigkeiten in den Sorbenspartikeln sowie die unterschiedlichen verfügbaren Porenvolumina als Kenngrößen verwendet. Beide für die Trenneffekte von SEC-Trennverfahren charakteristischen Größen werden erstmals in dem der Erfindung zugrundeliegenden Modell realistisch berücksichtigt.

20

15

25

Ansprüche

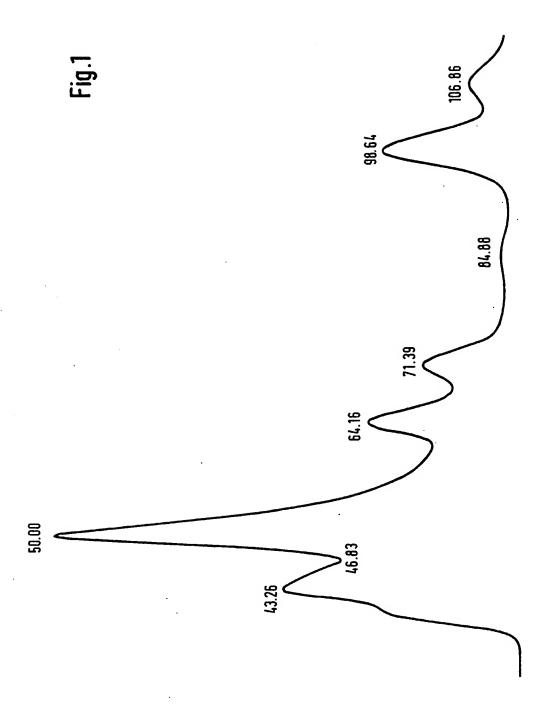
- 1. Kontinuierliches chromatographisches Trennverfahren, dadurch gekennzeichnet, daß die Analyte durch Size Exclusion Chromatographie (Gelpermeationschromatographie) getrennt werden.
- 2. Trennverfahren nach Anspruch 1, wobei das kontinuierliche chromatographische Trennverfahren ein SMB-Verfahren darstellt.

10

5

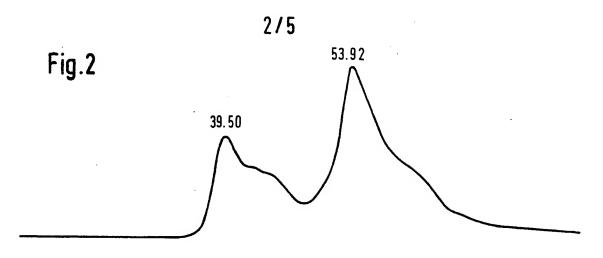
15

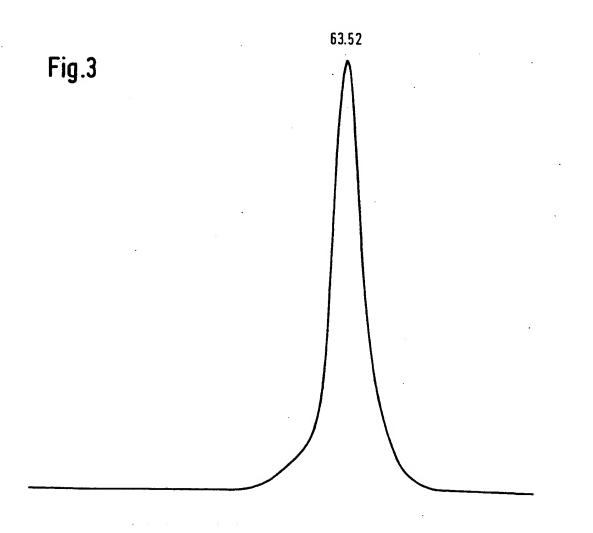
20

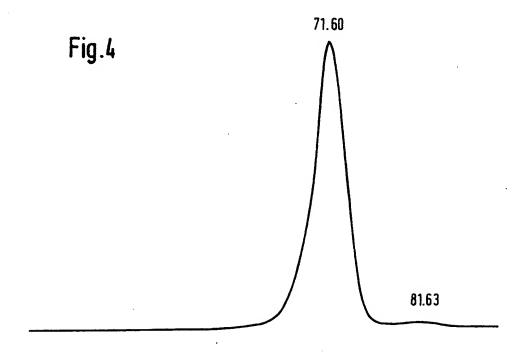


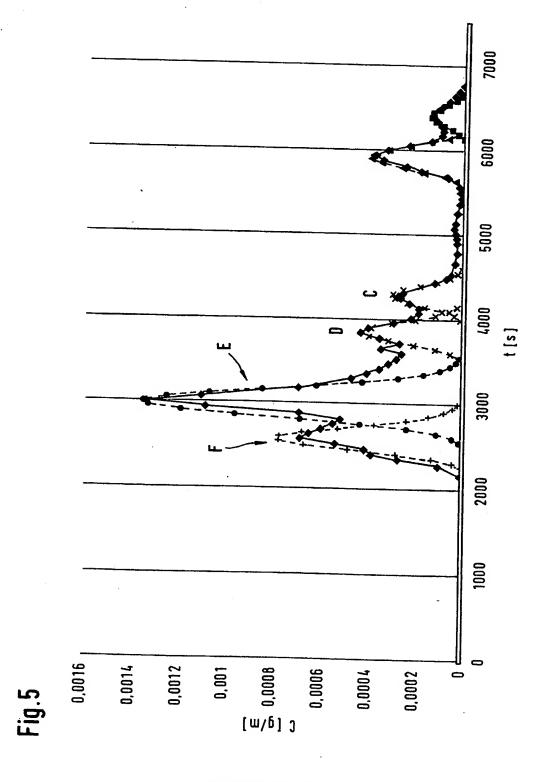


PCT/EP99/09495

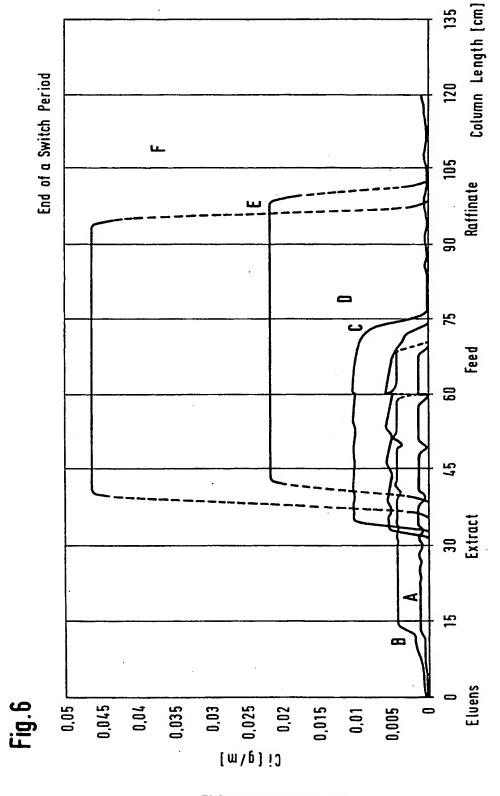








ERSATZBLATT (REGEL 26)



ERSATZBLATT (REGEL 26)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In Jonel Application No PCT/EP 99/09495

A CLAS	CIFIC ATTALL OF ALL PARTY.			J433
ÎPC 7	SIFICATION OF SUBJECT MATTER B01D15/02			
According	to International Patent Classification (IPC) or to both national cla			
	S SEARCHED	secretation and IPC		
Minimum	documentation searched (classification system followed by class	ification symbols)		····
176 /	ROID			
Document	ation searched other than minimum documentation to the extent	that such documents are include	d in the fields search	ed
Electronic	data base consulted during the international search (name of da	ta base and, where practical, se	arch terms used)	
C. DOCUM	MENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT			
Category *		an delimination and a second		
	whose appropriate, or tr	ie reievant passages		Relevant to claim No.
A	WO 97 34918 A (ARZNEIMITTELWER GMBH) 25 September 1997 (1997— cited in the application the whole document	K DRESDEN 09–25)		1,2
A	DE 43 16 136 A (MERCK PATENT GI 17 November 1994 (1994-11-17) cited in the application the whole document	MBH)		1,2
	-	, ,		
Furth	ner documents are listed in the continuation of box C.	X Patent family mem	bers are listed in ann	эх.
	tegoriee of cited documents :	T later document published	d after the internation	al filmo data
CONNIC	ont defining the general state of the art which is not ered to be of particular relevance local published on or after the international otal	or priority date and not cited to understand the invention "X" document of particular re	principle or theory u	nderfying the
"L" documer which is citation 'O" docume	rt which may throw doubts on priority claim(s) or s cited to establish the publication date of another or other special reason (as specified) ant referring to an oral disclosure, use, exhibition or	cannot be considered in involve an inventive ste "Y" document of penticular re cannot be considered to document is combined	ovel or cannot be cor p when the document elevance; the claimed o involve an inventive	eidered to is taken alone invention step when the
other m P° documents later that	nt published prior to the international filing date but an the priority date claimed	ments, such combination in the art. "&" document member of the	n being obvious to a	person skilled
	ctual completion of the international search	Date of mailing of the in		ort
2	May 2000	10/05/2000		
Name and m	ailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk	Authorized officer		
	Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fex: (+31-70) 340-3016	Bertram, H		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

In Ional Application No PCT/EP 99/09495

Patent document cited in search repor	rt	Publication date	į	Patent family member(s)	Publication date
W0 9734918 A		25-09-1997	DE 19611094 A		25-09-1997
			CN	1212703 A	31-03-1999
			CZ	9802999 A	13-10-1999
			DE	19716167 A	22-10-1998
			EP	0888382 A	07-01-1999
			HU	9901801 A	28-09-1999
			NO	984133 A	08-09-1998
			PL	329113 A	15-03-1999
			SK	122298 A	06-08-1999
DE 4316136	A	17-11-1994	AT	183937 T	15-09-1999
			DE	59408696 D	07-10-1999
			WO	9426379 A	24-11-1994
			EP	0697905 A	28-02-1996
			JP	8510327 T	29-10-1996

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In. Ionales Aktenzeichen
PCT/EP 99/09495

A MI ACC	NET PRIME AND ALLER AND AL		,
ÎPK 7	SFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES B01D15/02		
Nach der le	nternationalen Patentidaseifikation (IPK) oder nach der nationalen K	Gassifikation und der IPK	
B. RECHE	PICHIERTE GEBIETE		
Recherchie	erter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssyr	nbole)	
IPK 7	B01D	,	
Recherchie	nte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen,	soweit diese unter die recherchierten Gebiete	fallen
1A/Rhanad d			
Wallong G	er Internationalen Recherche konsultierte elektronieche Datenbank	(Name der Datenbank und evtl. verwendete	Suchbegriffe)
C. ALS WE	SENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Ange	be der in Betracht kommenden Telle	Betr. Anspruch Nr.
Α .	WO 97 34918 A (ARZNEIMITTELWERK GMBH) 25. September 1997 (1997-0 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	DRESDEN 9–25)	1,2
A	DE 43 16 136 A (MERCK PATENT GMB 17. November 1994 (1994-11-17) in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	H)	1,2
ts.			
entre	ere Veröffentlichungen eind der Fortsetzung von Feld C zu ehmen	X Siehe Anhang Patentfamilie	
"A" Veröffen aber ni "E" älteres E Anmeld "L" Veröffen scheine andere soll ode auagefi "O" Veröffen eine Re	itlichung, die sich auf eine mündliche Offenberung,	"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht vanweidung nicht kollidert, sondern nur Erfindung zugrundellegenden Prinzipe of "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeut kann allein aufgrund dieser Veröffentlicher Tätiglteit beruhend betrac "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeut kann nicht als auf erfinderischer Tätigle werden, wenn die Veröffentlichung mit e Veröffentlichungen dieser Kategorie in V dese Verbindung für einen Fachmann n	worden ist und mit der zum Verständnie dee der der der ihr zugrundellegenden ung; die beanspruchte Erfindung ung nicht als neu oder auf niet werden ung; die beanspruchte Erfindung it beruhend betrachtet iner oder mehreren anderen erbindung esbracht wird und
dem be	tichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach anspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	*&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben F	
	bechlusees der Internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Reci	
	Mai 2000	10/05/2000	
Name und Po	petanechrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäischee Patentamt, P.B. 5818 Patentiaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk	Bevollmächtigter Bediensteter	
	Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fex: (+31-70) 340-3016	Bertram, H	-

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

in. .onalee Aktenzeichen
PCT/EP 99/09495

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9734918	A	25-09-1997	DE CN CZ DE EP HU NO PL	19611094 A 1212703 A 9802999 A 19716167 A 0888382 A 9901801 A 984133 A 329113 A 122298 A	25-09-1997 31-03-1999 13-10-1999 22-10-1998 07-01-1999 28-09-1999 08-09-1998 15-03-1999 06-08-1999
DE 4316136	A	17-11-1994	AT DE WO EP JP	183937 T 59408696 D 9426379 A 0697905 A 8510327 T	15-09-1999 07-10-1999 24-11-1994 28-02-1996 29-10-1996

THIS PAGE BLANK (USPTO)